

一种大小鼠明暗箱图像分析处理系统的研制

张宏霞¹, 吕静薇², 张北月⁴, 董黎明², 李 由³, 陈晓萍³, 陈善广^{3*}, 刘新民^{1,2*}

(1. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 2. 中国医学科学院, 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 3. 中国航天员科研训练中心人因工程重点实验室, 北京 100094; 4. 北京中医药大学, 北京 100029)

【摘要】 目的 建立一种稳定、高自动化的明暗箱, 为抗焦虑药物的筛选以及焦虑症病理机制的研究提供自动化检测分析技术。**方法** 采用计算机视频跟踪、图像分析等技术, 研制大鼠、小鼠明暗箱图像分析处理系统。并用雄性 Wistar 大鼠进行明暗环境和指标准确性的验证。**结果** 暗室时间为总时间的 79.40%, 成功建立明暗环境。运动阈值为 18 cm/s 时, 计算机所获数据与人工记录所获结果具有高度相关性, $r > 0.99$ 。穿箱次数、明室时间、暗室时间、入暗潜伏期的人机相关系数 $r > 0.99$ 。与空白组相比, 明暗箱模型组穿箱次数、明室时间显著减少。**结论** 明暗箱图像分析处理系统稳定、可靠、自动化程度高、提取信息量大, 指标客观灵敏, 可推广用于抗焦虑药物的筛选以及焦虑症病理机制的研究。

【关键词】 焦虑; 明暗箱; 计算机图像分析处理系统; 大鼠; 小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 04-0043-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.04.008

Development of a computer-aided-controlling and image analysis system for light/dark box test in mice and rats

ZHANG Hongxia¹, LYU Jingwei², ZHANG Beiyue⁴, DONG Limin², LI You³, CHEN Xiaoping³,
CHEN Shanguang^{3*}, LIU Xinmin^{1,2*}

(1. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China. 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193. 3. National Key Laboratory of Human Factors Engineering, China Astronaut Research and Training Center, Beijing 100094. 4. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

【Abstract】 Objective To develop a computer-aided-controlling and analysis system for light/dark box in mice and rats with a high degree of automation and intelligence. **Methods** Video recording and image processing were applied to develop the computer-aided-controlling and image analysis system for light/dark box test in mice and rats. The artificial environment was developed. The stability and reliability of the system was validated by male rats. **Results** The percentage of time spent in the lit chamber in total time was above 79.40%. The data showed that the artificial environment was successful. When the threshold was set at 18 cm/s, the data showed a high correlation coefficient of movement time between the computer and manual recordings ($r > 0.99$). Classical indexes including transition and time spent in both the lit and dark chambers also showed a high correlation. The model group showed a significantly decrease in the transitions and time spent in the lit chamber compared with the control group, indicating a high stability and reliability of the light/

【基金项目】 解放军总装生物交叉预研项目(51326050501); 中国医学科学院医学创新工程(2016-I2M-2-006)。

【作者简介】 张宏霞(1990—), 女, 硕士研究生, 专业: 药理学。E-mail: 1915539084@qq.com

【通信作者】 刘新民(1962—), 男, 博士生导师, 研究方向: 中药神经药理及实验方法研究。E-mail: liuxinmin@hotmail.com。

陈善广(1962—), 男, 博士生导师, 研究方向: 航天人-机-环工程研究。E-mail: tigercsg@163.com。 * 共同通信作者

dark box test. **Conclusions** A stable and highly intelligent computer-aided-controlling and image analysis system for light/dark box test of mice and rats has been developed, and it could be used for pathological mechanism studies of anxiolytics.

【Key words】 anxiety; light/dark box test; computer-aided-controlling and image analysis system; rat; mouse

明暗箱实验(light/dark box test, LDB),是一种使用较为广泛的行为学检测方法^[1-2],用来筛选和评价抗焦虑药物的活性,同时也可用于焦虑症病理机制的研究^[3]。因明暗箱实验具有操作简单且不需要事先训练动物^[4]的优点,自 1980 年 Crawley 等^[5]建立至今,已经成为经典的评价啮齿类动物状态性焦虑和特质性焦虑行为学方法^[6]。明暗箱利用啮齿类动物喜欢探究新奇环境,但又因厌恶明室中亮光而被迫退却,由此形成矛盾冲突状态,使穿箱次数减少。抗焦虑药物可显著增加鼠的穿箱次数以及在明室时间^[7]。

作者在抗焦虑中药药理实验研究过程中,参考国内外已有的抗焦虑研究方法,结合医学动物行为学、计算机科学、机械工程学,利用计算机视频采集技术和图像分析技术,研制了明暗箱实验图像分析处理系统,实现了明暗箱实验图像分析系统的高自动化、提取信息量大、指标敏感而丰富、图像信息形象而生动。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 100 只,体重 220 ~ 250 g,6 ~ 7 周龄,由北京维通利华实验动物公司提供[SCXK(京)2016-0011]。全部动物实验在中国医学科学院药用植物研究所动物房进行[SYXK(京)2013-0023]。动物适应环境 5 d 后进行实验,实验期间自由供给标准饲料和清洁自来水,12 h: 12 h(光: 暗),室温 22℃~25℃,湿度条件为(55 ± 10)%。并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.2 主要仪器

灰白色铝合金材料、防反光的黑色糙面金属材料、电路控制模块(固态继电器、电源、转换器等)、发光二极管、工业摄像机(VS-250DH,分辨率 752 × 582)、镜头(AFT-VS0410ZM),镜头可变焦 3.5 ~ 8 mm)、红外截止滤镜、视频线、CAN 现场总线,CAN 现场总线接口卡(KPCI-8110)、计算机主机(9 寸显示屏,双核,Intel i5 处理器,Windows 7 系统,内存容量 4 G,硬盘内存 1 TB,三个以上 USB 接口,刻录光驱)、显卡、单片机 MCU、图像采集卡(微视 E413,总

线数据传输速率可达 250 MByte/S, 9 bit 的视频 A/D, 8 路的 TTL 输入/输出控制)、采样速率每秒 25 帧、打印机。

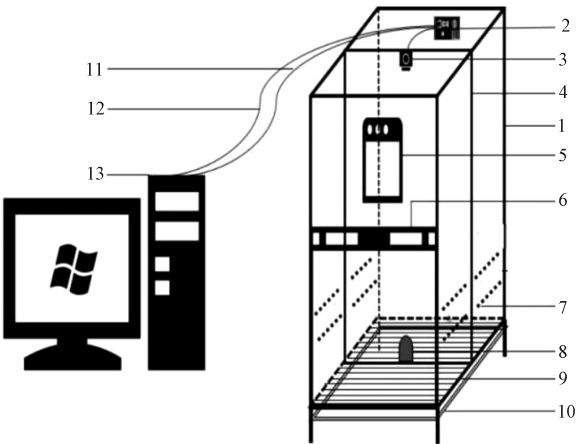
1.3 大、小鼠明暗箱图像分析处理系统的建立

1.3.1 硬件的研制

明暗箱实验系统采用摄像视频跟踪技术识别目标,获取动物在明暗箱中活动情况。明暗箱硬件由测试箱、CAN 现场总线、工业摄像机、图像采集卡、电路控制模块等组成。大鼠明暗测试箱尺寸为:61 cm × 46 cm × 100 cm(长 × 宽 × 高),小鼠明暗测试箱尺寸为:40 cm × 15 cm × 100 cm(长 × 宽 × 高)。明暗测试箱为灰白色铝合金的封闭测试箱体(1),箱体内部用隔板(4)分隔成明暗两室,明室顶部装有白光灯,照度可调为 0 到 1200 lux,暗室照度为 2 lux,隔板下方有一小门(8)相通。测试箱顶部为控制电路板(2),顶部中间位置安装有摄像头(3),摄像头上装有红外截止滤镜,侧面装有红外背景光源(7)(波长 850 nm,侧面平行照射,安装于 2 倍于老鼠身体高度的位置^[8],高度约为(7 ~ 10 cm),底部为不锈钢栅(9),钢栅下方有用于收集动物的排泄物的活动抽屉(10)。CAN 现场总线(11)接收软件发送的指令,开启红外光,工业摄像机(3)实时采集明暗箱测试仪中动物的活动情况,图像采集卡将采集到的模拟信号转化为数字信号,软件对传送的数字信号进行处理分析。明暗箱图像分析处理系统见图 1。

1.3.2 软件的研制

明暗箱实验系统软件利用 Microsoft Visual C++6.0 编程,可用于 Windows 7、Windows XP 操作系统,采用阈值分割法识别明暗箱中的动物,边缘法计算动物的质心并跟踪动物的运动轨迹,扣除“本底噪音”方式^[8]以及阈值法^[9],剔除多种噪声。其中明暗箱实验软件利用 E413 采集卡的 SDK 开发了视频采集模块,实现对明暗箱中大、小鼠行为表现的准确采集与分析;加入 Open CV 开发包,实现高效的标准化图像处理;研制直方图均衡化图像增强方法,实现了图像自动二值化功能、基于对话框的手动二值化功能和大、小鼠轮廓的全自动提取和质心计算等功能。明暗箱实验实时分析处理系统图像处理流程,参见图 2。

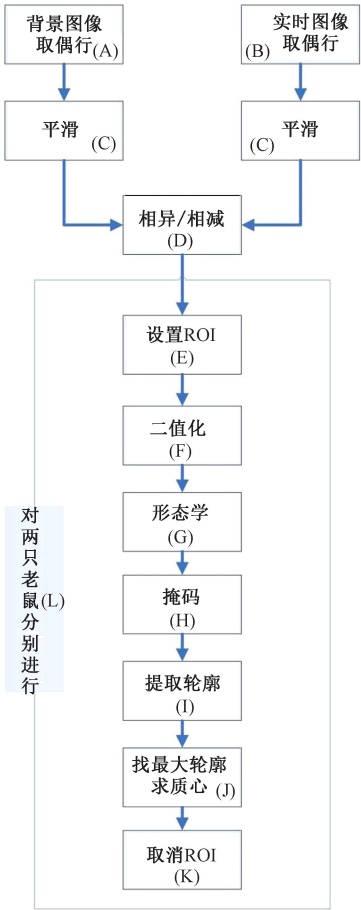


注:(1)测试箱体;(2)控制电路;(3)摄像头;(4)隔板;(5)观察窗;(6)门;(7)红外灯阵列;(8)通道;(9)钢栅;(10)粪便收集板;(11)CAN 现场总线;(12)电源线;(13)实验软件系统。

图 1 明暗箱图像分析处理系统示意图
Note. (1) Light/dark box, (2) Circuit, (3) Cameras, (4) Baffle plate, (5) Observation window, (6) Door, (7) Infrared lamp, (8) Corridor, (9) Grid, (10) Fecal collection plate, (11) Controller area network, (12) Power line, (13) Software.

Fig.1 Schematic diagram of the structure of the computeraided-controlling and image analysis system for light/dark box test

明暗箱图像分析处理系统软件由实验方案、参数设置、实验控制、数据分析与轨迹回放 4 大功能模块组成。实验方案:实验时间、实验名称、动物品系、药品名称、动物分组等实验信息。实验设置:包括任务参数和实验参数。任务参数:实验保存目录、实验名称、操作人员等基本信息;参数设置:包括实验阶段、适应时间、实验时间、明暗区域比例的调节、灰度阈值的设置、相机提取阈值的改变等。实验控制:实验流程控制、实验条件信息的显示、动物活动视频实时监控与指标的实时显示。点击实验开始后,实验系统自动识别动物,记录动物位置的变化,提取得到带时间坐标的多维活动轨迹,并根据实验条件,自动控制实验流程。数据分析:数据保存、查看及重新处理。实验结束后实验人员可根据需求,选择分析的实验数据、行为学指标以及可提取动物的图像信息。实验数据自动将结果保存为 Excel 文件。该软件可提取 26 项直观、科学的行为学指标信息。其中包括:入明/入暗潜伏期、入明/入暗次数、穿箱次数、明室(暗室)时间等基本的评价指标;运动时间、静息时间、明室/暗室运动时间、明室/暗室静息时间、总路程、明室/暗室路程、运动速度等其余判断的指标。同



注:(A)背景图像取偶行;(B)实时图像取偶行;(C)平滑;(D)相异/相减;(E)设置 ROI;(F)二值化;(G)形态学;(H)掩码;(I)提取轮廓;(J)找最大轮廓求质心;(K)取消 ROI;(L)对两只老鼠分别进行。

图 2 明暗箱图像分析处理系统图像处理流程
Note. (A) Background image. (B) Real-time image. (C) Smoothing. (D) Subtraction. (E) Set ROI. (F) Binary threshold. (G) Morphology. (H) Mask image. (I) Extract contours. (J) Find the longest contour and get the mass center. (K) Unset ROI. (L) For each of the two mice.

Fig.2 A diagram of the software of the computeraided-controlling and image analysis system

时该软件可实时提取动物的多种图像信息,包括视频图像、轨迹图、热点图以及轨迹热点复合图等。明暗箱图像分析处理系统软件轨迹热点图,见图 3。

明暗箱实验图像分析处理系统软件界面采用结构化、模块化的设计风格,操作简洁方便,由图像显示区、参数设置控制区、实时结果输出区三部分构成。明暗箱实验图像分析处理系统软件界面图,参见图 4。

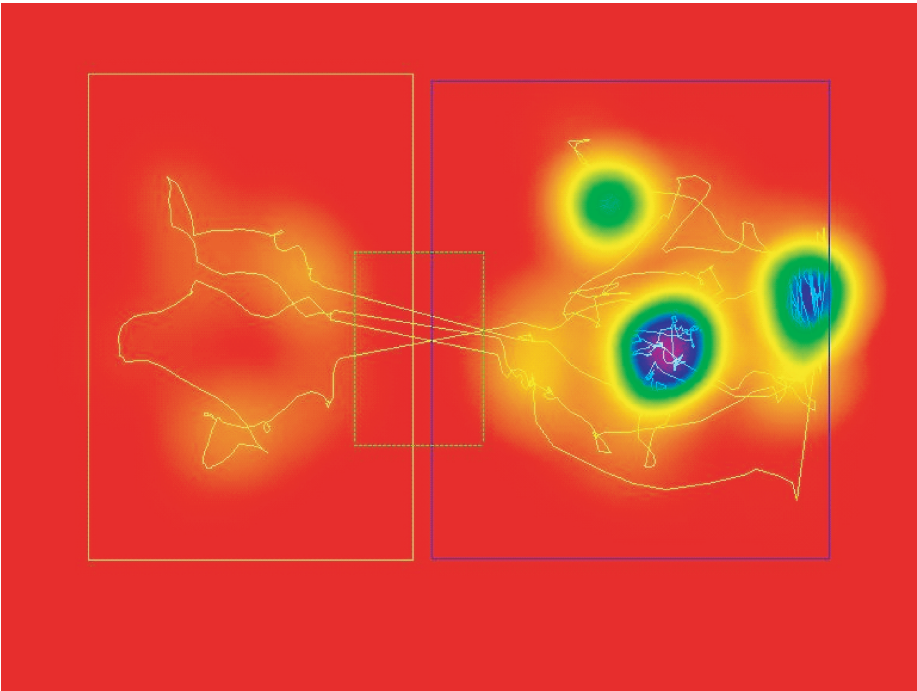


图 3 明暗箱图像分析处理系统轨迹热点图

Fig.3 Diagram of trajectory and hot spot map of the computer-aided-controlling and image analysis system for the light/dark box test

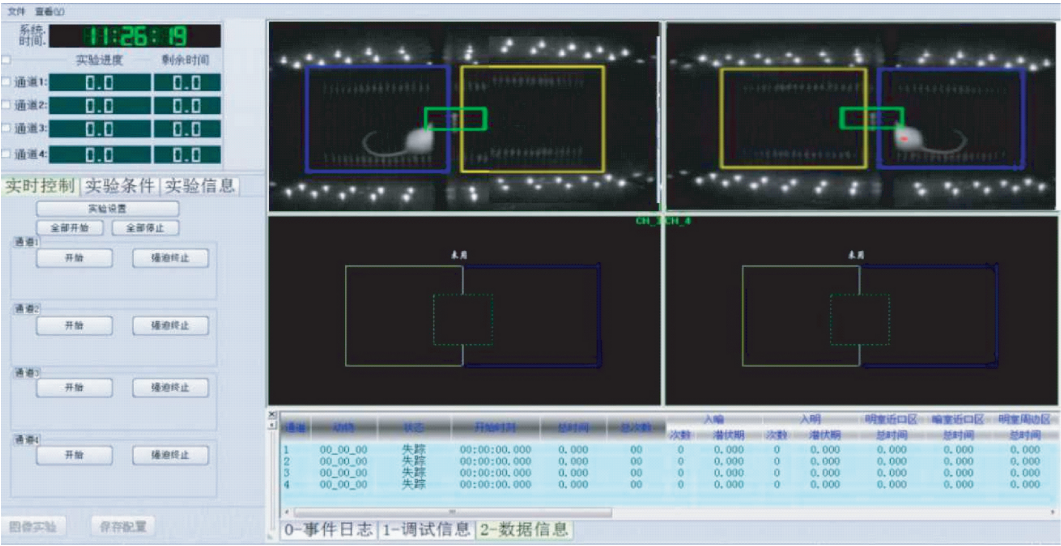


图 4 明暗箱实验图像分析处理系统软件界面图

Fig.4 Software interface of the computer-aided-controlling and image analysis system for light/dark box test

1.4 明暗箱图像分析处理系统验证

1.4.1 明暗环境的验证

雄性 40 只 Wistar 大鼠,随机分为两组:A 组(明室无灯组)20 只;B 组(明室有灯组)20 只。在测试房适应 1 h,进行明暗箱实验实验,历时 1 d,每天 1 次,每次 5 min,均于当日 8:00~12:00 am 进行。实验时打开红外背景灯,实验人员通过视频监控实验过程,同时录制视频以提高人工记录的准确度。明室灯光

照度为 400 lux,暗室照度为 2 lux。实验中 A 组关闭明室白光灯,B 组则开启明室白光灯,所有动物均背朝通道放入明室位置^[10],用秒表记录动物在明室和暗室停留时间,以及记录穿箱次数。

1.4.2 运动阈值的确认

雄性 Wistar 大鼠 40 只,在测试房适应 1 h 后,进行明暗箱实验。实验在一天内完成,首先打开明暗箱计算机图像实时分析处理系统,开启明室内白

光灯(明室灯光照度为 400 lux^[5,11],暗室照度为 2 lux),设置实验时间为 5 min。将动物背朝通道,放入明室内,实验过程中,人工记录动物的运动时间(以动物四肢移动作为判断其运动的标准),同时软件根据不同的运动阈值(运动阈值取 9、18、27、36、45、54 cm/s),分析得到不同的运动时间。实验后,将人工记录的运动时间与软件记录的运动时间进行相关性分析^[12],确定最佳的运动阈值。

1.4.3 指标可靠性验证

雄性 Wistar 大鼠 20 只,在测试房适应 1 h 后,进行明暗箱实验。实验历时 1 d,打开明暗箱计算机图像实时分析处理系统,开启明室白光灯(明室灯光照度为 400 lux,暗室照度为 2 lux),设置实验时间为 5 min,将动物背朝通道门放入明室,允许其在明暗室内自由活动,检测 5 min 内动物穿箱次数、入暗次数、明室时间以及暗室时间等指标,并将人工记录数据与软件分析结果进行相关性分析。

1.4.4 明暗箱实验实时检测分析处理系统的应用

雄性 Wistar 大鼠 40 只,随机分为两组:A 组(正常组为明室无灯组),20 只;B 组(模型组为明室有灯组),20 只。在测试房适应 1 h,进行明暗箱实验实验,历时 1 d,每天 1 次,每次 5 min,均于当日 8:00 ~ 12:00 am 进行。实验时打

开红外背景灯,明室灯光照度为 400 lux,暗室照度为 2 lux,速度阈值设置为 18 cm/s。实验中 A 组关闭明室白光灯,B 组则开启明室白光灯,所有动物均背朝通道放入明室,计算机软件记录动物在明室和暗室运动时间、运动路程等基本活动情况。动物来源同 1.4.1。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析,实验数据以平均数 ± 标准误($\bar{x} \pm s\bar{x}$)表示,显著性水平设定为双侧 $\alpha = 0.05$,数据满足正态分布,用 *t-test*。数据不满足正态分布,用对数转换,满足正态分布后再进行统计分析,若转换后仍不满足正态分布则采用非参数检验方法。对人工观察结果与软件分析处理结果进行 Pearson 相关性分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 明暗环境的验证

动物从明室放入,检测 5 min,实验结果表明:同明室无灯组相比,明室有灯组的穿箱次数显著减少($P < 0.05$)、明室有灯组的明室时间显著减少($P < 0.01$)、暗室时间显著增加($P < 0.05$),且暗室时间为总时间的 79.4%。结果如表 1 所示。

表 1 明暗环境验证结果($\bar{x} \pm s\bar{x}, n = 20$)
Tab.1 Results of the environment check

组别 Groups	穿箱次数 Transitions	明室时间 Time in the light	暗室时间 Time in the dark
明室无灯组 Lit area without light group	18.70 ± 5.33	165.01 ± 5.64	134.03 ± 5.64
明室有灯组 Lit area with light group	7.450 ± 0.65 *	60.53 ± 7.15 *	238.28 ± 7.07 **

注:与明室无灯组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the lit area without light group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 大鼠明暗箱图像分析处理系统人工记录与计算机记录的运动时间相关性($\bar{x} \pm s\bar{x}, n = 40$)
Tab.2 Correlation of movement time of the rats collected by the computer and manual recording system in the light/dark test

方法 Methods	运动时间(s) Movement time	相关性系数 Correlation coefficient	Sighificance (2-tailed)
人工记录 Manual record	157.49 ± 2.67		
运动阈值(cm/s) Movement threshold	9	213.45 ± 3.76	0.802 **
	18	157.14 ± 2.82	0.996 **
	27	112.83 ± 3.63	0.925 **
	36	81.51 ± 3.86	0.901 **
	45	60.90 ± 4.54	0.876 **
	54	47.20 ± 3.85	0.854 **

注:与人工记录的数据相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the manual record, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.2 运动阈值的确认

运动阈值为 9、18、27、36、45、54 cm/s 时,人工计时与明暗箱测试软件的 Pearson 相关系数见表 2。当运动阈值为 18 cm/s 时,人机相关系数最高,为 0.996,差异有显著性。之后进行了多批次的实验验证,结果类似,证明明暗箱图像分析处理系统准确、客观的反映了动物在明暗箱中的活动情况。如表 2 所示。

2.3 指标可靠性验证

如表 3 所示,穿箱次数的人机相关性系数是 0.998 ($P < 0.01$)、明室时间的人机相关性系数是 0.998 ($P < 0.01$)、暗室时间的人机相关性系数是 0.994 ($P < 0.01$)、入明次数的人机相关性系数是

0.997 ($P < 0.01$)、入明潜伏期的人机相关性系数是 0.998 ($P < 0.01$),差异均有显著性,与人工记录值高度相关。结果见表 3。

2.4 明暗箱图像分析处理系统的应用

如表 4 所示,模型组(明室有灯组)、正常组(明室无灯组)两组的运动时间、明(暗)室的平均速度差异均无显著性,模型组的自主活动未受到影响。与正常组,模型组的穿箱次数 ($P < 0.01$)、明室时间 ($P < 0.01$)、明室运动总时间 ($P < 0.01$)、明室运动路程 ($P < 0.01$) 显著减少;入明潜伏期 ($P < 0.01$)、暗室运动时间 ($P < 0.01$)、暗室运动路程 ($P < 0.01$) 度显著增加。同时轨迹热点图也可生动形象的表明此结果。结果见表 4、图 5。

表 3 大鼠明暗箱图像分析处理系统各指标相关性分析($\bar{x} \pm s\bar{x}, n = 20$)

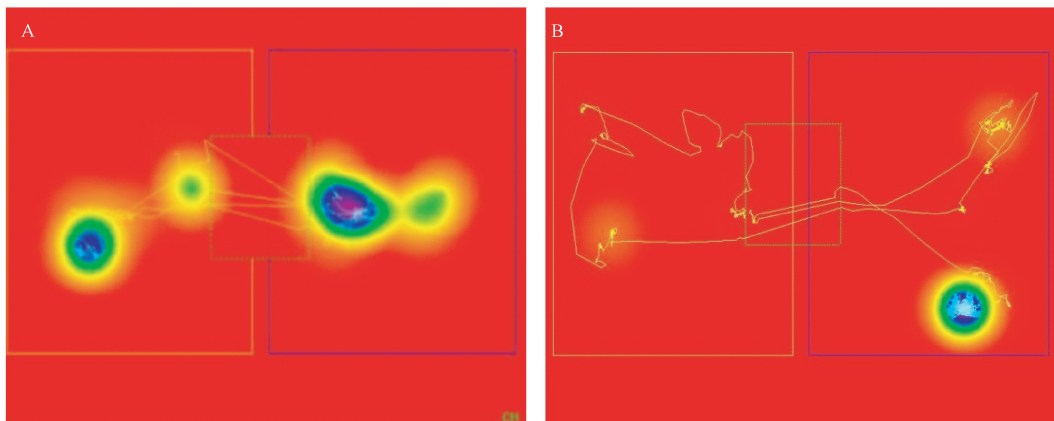
方法 Methods	穿箱次数 Crossing times	明室时间(s) Time in the light	暗室时间(s) Time in the dark	入明潜伏期(s) Latency into the light	入明次数 Number of times into the light
人工记录 Manual record	7.45 ± 0.65	60.33 ± 7.47	237.41 ± 7.27	90.19 ± 12.99	3.45 ± 0.33
计算机记录 Computer record	7.50 ± 0.64	60.53 ± 7.15	238.28 ± 7.07	90.45 ± 12.98	3.50 ± 0.32
相关性系数 Pearson value	0.998 **	0.998 **	0.994 **	0.997 **	0.988 **

注:与人工记录的数据相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the manual record, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 4 两组大鼠在明暗箱实验中各指标的比较($\bar{x} \pm s\bar{x}, n = 20$)

指标 Indexes	正常组 Control group	模型组 Model group
穿箱次数 Crossing times	13.42 ± 0.78	7.45 ± 0.65 **
运动时间(s) Movement time	163.83 ± 4.75	153.31 ± 3.73
入明潜伏期(s) Latency into the light	45.21 ± 5.51	82.20 ± 10.56 **
明室时间(s) Time in the light	160.47 ± 3.51	60.53 ± 7.15 **
明室运动总时间(s) Movement time in the light	91.04 ± 3.50	28.44 ± 3.18 **
明室运动路程(cm) Movement distance in the light	424.74 ± 23.67	144.29 ± 16.59 **
明室平均速度(cm/s) Average speed in the light	47.66 ± 2.15	51.19 ± 1.82
暗室运动时间(s) Movement time in the dark	74.47 ± 2.98	124.55 ± 3.38 **
暗室运动路程(cm) Movement distance in the dark	317.64 ± 11.87	586.40 ± 31.17 **
暗室平均速度(cm/s) Average speed in the dark	43.11 ± 1.39	47.15 ± 1.86

注:与正常组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。
Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



注: (A) 空白组; (B) 模型组。

图 5 大鼠的明暗箱图像分析处理系统轨迹热点图

Note. (A) Control group. (B) Model group.

Fig. 5 Trajectory diagram and hot spot map of the computer-auto-controlling and analysis system for light/dark box test of the rats

3 讨论

明暗箱是抗焦虑药物筛选以及焦虑症病理机制研究中评价啮齿类动物的经典实验方法^[13-14]。结合医学实验动物学、计算机科学、机械工程学等多学科优势,利用计算机视频采集技术和图像分析技术,提供了一种自动化程度高、重复性好、提取信息量大、指标敏感性强、图形信息形象而生动的大、小鼠明暗箱图像分析处理系统。

安静、稳定的实验环境是行为学实验结果可靠的先决条件。明暗箱图像分析处理系统采用封闭的箱体,红外灯作为背景光源,白炽灯作为明室光源,模拟了自然环境,又对实验环境进行了严格的控制。经过多批次的实验研究表明,暗室时间大于总时间的 70%,表明明暗环境成立,此结果也与文献报导相一致^[5]。明暗箱图像分析处理系统利用图像处理、数据挖掘等技术提取约 26 项指标。评价指标体系从时间、位置、速度和路程等几个方面全面而系统的提取动物的活动信息。对实验系统所提取的指标进行人机相关性验证,是仪器研发最重要和最基本的工作^[15-19]。经过大量的实验研究表明,当运动阈值为 18 cm/s 时,计算机与人工获取的运动时间高度吻合,人机相关系数达 $r > 0.99$ 。同时穿箱次数、明室时间、暗室时间、入明时潜伏期的人机相关系数 $r > 0.99$,计算机所采集的数据客观、可靠。实验室将采用不同品系的大鼠和小鼠、不同的动物模型对明暗箱实验系统所提取出的大量行为学指标进行进一步研究,以期建立更加准确的指标评价体系。

明暗箱实验是经典的焦虑动物模型^[6,20-22]。穿箱次数、明室时间、入明潜伏期等是明暗箱实验中评价动物状态的重要指标参数^[11,24-25]。用明暗箱模型组与正常组大鼠进行比较,结果表明,同正常组相比,运动时间、明(暗)室的平均速度无显著性差异。穿箱次数、明室时间、明室运动总时间、明室运动路程显著减少。入明潜伏期、暗室运动时间、暗室运动路程显著增加。同时系统实时提取的视频图像、轨迹图以及热点图等图像信息也丰富生动的描述了动物的焦虑状态和自主活动状态。因此本系统的所获的这些指标与经典明暗箱模型的特点高度吻合^[14]。

综上所述,该明暗箱图像分析处理系统为动物行为学研究提供了一套自动化程度高、获取信息量大、人机数据高度相关、指标客观灵敏的分析处理系统,可推广用于抗焦虑药物的筛选以及焦虑症病理机制的研究。

参考文献:

- [1] Serchov T, Calker DV, Biber K. Light/dark transition test to assess anxiety-like behavior in mice [J]. Bio-protocol, 2016, 6 (19): e1957.
- [2] Costall B, Jones BJ, Kelly ME, et al. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1989, 32(3): 777-785.
- [3] Miller SM, Piasecki CC, Lonstein JS. Use of the light-dark box to compare the anxiety-related behavior of virgin and postpartum female rats [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2011, 100(1): 130-137.
- [4] Bourin M, Hascoët M. The mouse light/dark box test [J]. Eur J Pharmacol, 2003, 463(1-3): 55-65. (下转第 72 页)

指标测定结果显示:(1)AST、TRIG、ALKP、ALT、Ca、CHOL、CREA、GLU、PHOS 和 TBIL 的测定值雌雄之间差异不显著($P > 0.05$);(2)AMYL($P < 0.05$)、TP($P < 0.01$)的测定值雄性显著高于雌性;ALB($P < 0.01$)、UREA($P < 0.05$)、GLOB($P < 0.01$)的测定值雄性显著低于雌性。从上述测定结果可以看出:尽管广州地区经过驯化饲养的藏鸡部分生化指标测定值雌雄之间存在差异,但与西藏地区藏鸡的基本一致^[6],同时与广东本地饲养的五黑鸡相应血液学指标进行比较发现:藏鸡的大部分血液生理和生化指标与五黑鸡的比较接近。由此可见,经过广州亚热带地区驯化饲养后的藏鸡虽然不同性别间的血液学指标存在差异,但是仍然能很好地适应广州亚热带地区气候环境,并保持有原产地的特性;与此同时本实验也获得了广州亚热带地区人工饲养条件下藏鸡的血液生理和生化指标,为其以后的研究应用提供了基础数据。

参考文献:

- [1] 巴桑, 强巴央宗, 申晓东. 西藏地区藏鸡蛋的营养成份分析[J]. 畜禽业, 2003, (10): 18-19.
- [2] 雪域美食—藏鸡 (2010.8.30). http://jingji.cntv.cn/20100831/101424_2.shtml.
- [3] 洗琼珍, 计慧琴, 陈胜峰, 等. 阳山鸡血液主要生理生化指标的测定[J]. 畜牧与兽医, 2012, 44(S1): 46-48.
- [4] 袁进, 吴清洪, 陈丽, 等. 西藏小型猪与人血液流变学指标的比较分析[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(5): 53-55.
- [5] Carroll JA, Burdick NC, Chase CC Jr, et al. Influence of environmental temperature on the physiological, endocrine, and immune responses in livestock exposed to a provocative immune challenge[J]. Domest Anim Endocrinol, 2012, 43(2): 146-153.
- [6] 朱洪云. 西藏藏鸡的血清生化指标初探[J]. 畜牧与兽医, 2009, 41(8): 110-111.

[收稿日期]2017-10-17

(上接第 49 页)

- [5] Crawley J, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1980, 13(2): 167-170.
- [6] 孙君辉, 凌沛学, 蒋秋燕, 等. 焦虑大鼠模型的应用及研究进展[J]. 食品与药品, 2011, 13(6): 438-441.
- [7] Malmberg-Aiello P, Ipponi A, Bartolini A, et al. Mouse light/dark box test reveals anxiogenic-like effects by activation of histamine H1 receptors[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2002, 71(1-2): 313-318.
- [8] 党海霞. 穿梭计算机分析系统的建立和开心散改善抑郁症认知功能障碍研究[D]. 北京:中国协和医科大学, 2008.
- [9] Anagnostaras SG, Josselyn SA, Frankland PW, et al. Computer-assisted behavioral assessment of Pavlovian fear conditioning in mice[J]. Learn Mem, 2000, 7(1): 58-72.
- [10] Parent AJ, Beaudet N, Beaudry H, et al. Increased anxiety-like behaviors in rats experiencing chronic inflammatory pain[J]. Behav Brain Res, 2012, 229(1): 160-167.
- [11] Hascoët M, Bourin M. A new approach to the light/dark test procedure in mice[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1998, 60(3): 645-653.
- [12] 龚梦鹏, 刘新民, 王立为, 等. 小鼠游泳的计算机自动管理系统[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(3): 39-41.
- [13] Takao K, Miyakawa T. Light/dark transition test for mice[J]. J Vis Exp, 2006, (1): 104.
- [14] Kulcskaya N, Voikar V. Assessment of mouse anxiety-like behavior in the light-dark box and open-field arena: role of equipment and procedure[J]. Physiol Behav, 2014, 133: 30-38.
- [15] 谢磊, 李由, 刘新民, 等. 小鼠游泳耐力实验系统的建立与红景天抗疲劳作用的验证[J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(5): 71-76.
- [16] 孙秀萍, 张晓萌, 卢聪, 等. 悬尾实验实时检测分析处理系统的研制及初步应用[J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(5): 66-71.
- [17] 薛丹, 陈善广, 徐淑萍, 等. 构建自动、智能及敏感度高的避暗实验检测系统[J]. 中国组织工程研究, 2010, 14(15): 2778-2782.
- [18] 刘新民, 陈善广, 王圣平. 计算机控制的避暗自动测试系统[J]. 中国医学科学院学报, 1995, 17(6): 466-469.
- [19] 王琼, 买文丽, 李翊华, 等. 自主活动实时测试分析处理系统的建立与开心散安神镇静作用验证[J]. 中草药, 2009, 40(11): 1773-1779.
- [20] 李晓白, 方贻儒, 王祖承, 等. 抑郁症和焦虑症动物模型的研究进展[J]. 上海精神医学, 2004, 16(4): 241-243.
- [21] Bourin M. Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective[J]. Dialogues Clin Neurosci, 2015, 17(3): 295-303.
- [22] File SE. Usefulness of animal models with newer anxiolytics[J]. Clin Neuropharmacol, 1992, 15(Suppl 1 Pt A): 525A-526A.
- [23] Costall B, Domeney AM, Kelly ME, et al. The effect of the 5-HT3 receptor antagonist, RS-42358-197, in animal models of anxiety[J]. Eur J Pharmacol, 1993, 234(1): 91-99.
- [24] Costall B, Jones BJ, Kelly ME, et al. Sites of action of ondansetron to inhibit withdrawal from drugs of abuse[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1990, 36(1): 97-104.

[收稿日期]2017-09-13